基于HPLC指纹图谱和多成分含量综合评价扶正胶囊的质量Δ

陈　松[1*]，李运容[1]，农璐蔚[1]，黎　丽[1]，江先再[1]，曾翠琼[1]，王柳萍[2,3#]（1.广西中医药大学附属国际壮医医院壮瑶药研发中心，南宁　530201；2.广西中医药大学药学院，南宁　530200；3.广西中医药大学中药学国家级实验教学示范中心，南宁　530200）

中图分类号　R917；R284.1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）22-2726-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.22.04

摘　要　目的　建立壮药制剂扶正胶囊指纹图谱和多指标成分含量的测定方法，并对其进行质量评价。**方法**　采用高效液相色谱（HPLC）法，结合《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2004A）》建立12批扶正胶囊样品的指纹图谱，并进行相似度评价、共有峰确认；以指纹图谱共有峰峰面积为变量，采用SPSS 20.0软件进行聚类分析和主成分分析。采用同一HPLC法测定12批样品中甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵的含量。**结果**　12批扶正胶囊样品共有22个共有峰，相似度均大于0.91；指认出甘草苷（峰8）、特女贞苷（峰10）、3,6′-二芥子酰基蔗糖（峰11）、甘草酸铵（峰21）4个共有峰；12批样品可聚为3类，200801、200802、200803为Ⅰ类，样1～样8为Ⅱ类，221101为Ⅲ类；200802的综合得分（2.540）最高。12批样品中，甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵的含量分别为0.44～0.73、1.28～2.47、0.08～0.12、1.31～1.81 mg/粒。**结论**　12批扶正胶囊样品的主要成分相似但含量有所差别，以200802的质量最优；所建指纹图谱和多指标成分含量测定方法专属性强、准确度高，结合化学模式识别分析可用于扶正胶囊的质量评价。

关键词　扶正胶囊；指纹图谱；含量测定；化学模式识别分析；质量评价；高效液相色谱法

Quality evaluation of Fuzheng capsules based on HPLC fingerprint and multi-ingredient content determination

CHEN Song[1], LI Yunrong[1], NONG Luwei[1], LI Li[1], JIANG Xianzai[1], ZENG Cuiqiong[1], WANG Liuping[2,3]（1. Zhuang & Yao Medicine Research and Development Center, Guangxi International Zhuang Medicine Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530201, China; 2. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 3. National Demonstration Center for Experimental Chinese Medicine Education, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish the fingerprint of the Zhuang medicine preparation Fuzheng capsules and a method for the determination of multi-ingredient content for quality evaluation. **METHODS** High-performance liquid chromatography (HPLC) was used in conjunction with the *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprints of Traditional Chinese Medicine* (2004A edition) to establish the fingerprint of 12 batches of Fuzheng capsules, evaluate their similarity and confirm the common peaks. Cluster analysis and principal component analysis were performed using SPSS 20.0 software with the peak areas of the common peaks in the fingerprint as variables. The same HPLC method was adopted to determine the content of liquiritin, specnuezhenide, 3,6′-disinapoyl sucrose and ammonium glycyrrhizinate in the 12 batches of samples. **RESULTS** A total of 22 common peaks were identified in the fingerprints of the 12 batches of Fuzheng capsules, with the similarities greater than 0.91. Four common peaks were identified as liquiritin (peak 8), specnuezhenide (peak 10), 3,6′-disinapoyl sucrose (peak 11), and ammonium glycyrrhizinate (peak 21). The 12 batches of samples could be clustered into 3 categories, with 200801, 200802 and 200803 as category Ⅰ, samples 1 to 8 as category Ⅱ, and 221101 as category Ⅲ. The sample 200802 had the highest comprehensive score (2.540). The contents of liquiritin, specnuezhenide, 3, 6′-disinapoyl sucrose and ammonium glycyrrhizinate in the 12 batches of samples were 0.44 to 0.73, 1.28 to 2.47, 0.08 to 0.12, and 1.31 to 1.81 mg per capsule, respectively. **CONCLUSIONS** The main components of the 12 batches of Fuzheng capsules were similar, but the content varied, with the sample 200802 indicating the highest quality. The established fingerprint and

Δ**基金项目**　国家中医药管理局全国名老中医药专家传承工作室建设项目——黄汉儒全国名老中医药专家传承工作室、黄瑞松全国名老中医药专家传承工作室（No.国中医药人教函〔2022〕75号）；国家卫生健康委、国家中医药管理局第二届全国名中医项目（No.国中医药人教发〔2022〕5号）；国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目——少数民族药学（壮药学）（No.zyyzdxk-2023165）；广西中医药大学全国名中医黄汉儒学术思想与临床诊疗传承发展推广中心项目（No.2022V004）

*第一作者　副主任药师。研究方向：药物分析、质量控制、民族药制剂研发。E-mail：84946936@qq.com

#通信作者　教授，博士。研究方向：中药、民族药的品质与药效研究。E-mail：rousel@126.com

multi-ingredient content determination method were highly specific and accurate, which can be used for the quality evaluation of Fuzheng capsules in combination with chemical pattern recognition analysis.
KEYWORDS Fuzheng capsules; fingerprint; content determination; chemical pattern recognition analysis; quality evaluation; HPLC

扶正胶囊为广西中医药大学附属国际壮医医院的院内壮药制剂，是广西壮族民间验方，由地方习用药材黄花倒水莲（黄花参）、牛大力（勾两抹）、扶芳藤（勾咬）、黄根（壤现）、女贞子、甘草组方而成，具有补气虚、补血虚、补阴虚、补阳虚、除湿毒、散瘀血、通调“三道两路”的功效，对神经衰弱（壮医“闹诺”）、2型糖尿病（壮医“阿幽朊”）和神疲乏力、形体消瘦、声低息微、少言懒言、自汗、心悸、健忘、耳鸣、眼睛干涩、视物模糊、肢体麻木、筋脉拘急、食少纳呆等各种虚证具有良好的疗效[1]。但该制剂的现行质量标准仅对扶芳藤药材和女贞子主要成分齐墩果酸的薄层色谱定性鉴别进行了规定[1]，并未要求对其他主要成分含量进行定量检测，质量标准有待提升。

近年来，学界越来越注重中药制剂的整体质量评价，认为“以点代面，以一代全”的单成分评价和“唯含量论”的质量评价已无法客观、准确地反映中药制剂的整体质量[2-3]。中药指纹图谱是一种综合分析手段，在指纹图谱分析的基础上结合主要成分定量分析，可反映中药制剂的整体质量信息，从而更全面地评估中药制剂的质量[4-6]。扶正胶囊中，3，6′-二芥子酰基蔗糖为黄花倒水莲的活性成分之一[7]，具有神经保护、抗抑郁、抗焦虑、降糖等药理作用[8-10]；除齐墩果酸外，女贞子的另一主要成分特女贞苷具有改善胰岛素抵抗、保护血管内皮细胞的作用[11-12]；甘草苷、甘草酸铵为甘草的主要成分，甘草苷具有抗抑郁、抗氧化、抗炎、抗病毒、保护损伤神经细胞、护肝等药理作用[13-15]，甘草酸铵具有抗炎、减轻带状疱疹后遗神经痛及药物性肝损伤的作用[16-18]。上述药理作用与扶正胶囊的功能主治高度相关。基于此，本研究拟采用高效液相色谱（HPLC）法建立12批扶正胶囊的指纹图谱，结合化学模式识别分析探讨各批样品的质量差异，同时测定其主要药效成分甘草苷、特女贞苷、3，6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵的含量，以期为该制剂质量的整体评价、后续量效关系分析和进一步开发利用提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括1260 infinity Ⅱ型HPLC仪（配备二极管阵列检测器，美国Agilent公司），ME155DU型十万分之一电子天平、ME204型万分之一电子天平（瑞士Mettler-Toledo公司），Master-Q30型超纯水系统（上海和泰仪器有限公司），KQ-300DB型超声波清洗机（昆山市超声仪器有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

12批扶正胶囊（桂药制字M20120001，规格为每粒装0.4 g）样品[其中批量生产样品4批（批号分别为200801、200802、200803、221101），小试样品8批（批号分别为230501、230502、230503、230504、230601、230602、230603、230604，简称样1～样8）]均由广西国际壮医医院壮瑶药研发中心提供。

组方药材饮片黄花倒水莲（批号20230302）、牛大力（批号20230101）、扶芳藤（批号20221101）、黄根（批号20220901）、女贞子（批号20220901）、甘草（批号20230301）均购自广西仙茱中药科技有限公司，经广西国际壮医医院壮瑶药研发中心黄瑞松主任中药师鉴定均为真品；甘草苷对照品（批号111610-201908，纯度93.1%）、甘草酸铵对照品（批号110731-201619，纯度93.0%）、特女贞苷对照品（批号111926-201906，纯度95.0%）均购自中国食品药品检定研究院；3，6′-二芥子酰基蔗糖对照品（批号MUST-21081304，纯度98.13%）购自成都曼斯特生物科技有限公司；甲醇、乙腈均为色谱纯，其余试剂均为分析纯，水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以Gemini-NX C_{18}（4.6 mm×250 mm，5μm）为色谱柱，以乙腈（A）-0.1%甲酸溶液（B）为流动相进行梯度洗脱（0～20 min，5%A→7%A；20～50 min，7%A→20%A；50～75 min，20%A→32%A；75～100 min，32%A→55%A；100～105 min，55%A→80%A；105～110 min，80%A；110～112 min，80%A→5%A；112～117 min，5%A）；流速为1 mL/min；柱温为35 ℃；检测波长为238 nm；进样量为10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 指纹图谱用混合对照品溶液

取甘草苷、特女贞苷、3，6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵对照品各适量，精密称定，加甲醇溶解并定容，得质量浓度分别为912.38、1 239.75、861.58、5 245.20 μg/mL的单一对照品储备液。分别取上述各单一对照品储备液200 μL，置于1 mL容量瓶中，加甲醇稀释并定容，摇匀，即得甘草苷、特女贞苷、3，6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵质量浓度分别为182.48、247.95、172.32、1 049.04 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 含量测定用混合对照品溶液

取“2.2.1”项下单一对照品储备液，分别精密吸取100、400、50、300 μL，置于1 mL容量瓶中，加甲醇稀释并定容，摇匀，即得甘草苷、特女贞苷、3，6′-二芥子酰基

蔗糖、甘草酸铵质量浓度分别为91.24、495.90、43.08、1 573.56 μg/mL的对照品混合液A；精密吸取该对照品混合液A 100 μL，置于1 mL容量瓶中，加甲醇稀释并定容，摇匀，即得甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵质量浓度分别为9.12、49.59、4.31、157.36 μg/mL的对照品混合液B。

2.2.3　扶正胶囊供试品溶液

取扶正胶囊内容物，研匀，取约1.0 g，精密称定，置于50 mL三角瓶中，精密加入70%甲醇20 mL，称定质量，超声（功率300 W，频率40 kHz）处理30 min；取出，待冷却至室温后用70%甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.2.4　扶正胶囊组方单味药材溶液

分别取黄花倒水莲、牛大力、扶芳藤、黄根、女贞子、甘草饮片适量，按照扶正胶囊制备工艺提取、干燥[1]，再按“2.2.3”项下方法操作，制得各单味药材溶液。

2.3　扶正胶囊指纹图谱的建立与分析

2.3.1　精密度考察

取扶正胶囊样品（样6），按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再以“2.1”项下色谱条件连续进样6次，记录峰面积。以峰10（特女贞苷，保留时间适宜且峰面积较大，后同）为参照，计算得各共有峰相对保留时间的RSD均不高于0.3%，相对峰面积的RSD均不高于2.7%（n=6），表明方法精密度良好。

2.3.2　重复性考察

取扶正胶囊样品（样6），共6份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再以“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积。以峰10为参照，计算得各共有峰相对保留时间的RSD均不高于0.2%，相对峰面积的RSD均不高于3.0%（n=6），表明方法重复性良好。

2.3.3　稳定性考察

取扶正胶囊样品（样6），按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再以“2.1”项下色谱条件，分别于室温下放置1、4、8、12、18、24 h时进样分析，记录峰面积。以峰10为参照，计算得各共有峰相对保留时间的RSD均不高于0.3%，相对峰面积的RSD均不高于2.6%（n=6），表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.3.4　指纹图谱建立及相似度评价

分别取12批扶正胶囊样品，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再以“2.1”项下色谱条件进样分析，记录色谱图。将采集到的色谱数据以“AIA”文件格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2004A）》，以扶正胶囊样品（样6）图谱为参照图谱，设定时间窗宽度为0.2 min，采用平均数法进行多点校正，得扶正胶囊的叠加指纹图谱（图1）及对照指纹图谱（图2），并进行相似度分析。结果显示，12批样品的指纹图谱与对照指纹图谱的相似度分别为0.983、0.912、0.911、0.912、0.969、0.983、0.985、0.983、0.984、0.980、0.985、0.976，均大于0.91，表明各样品相似度良好，提示不同批次扶正胶囊的化学组成差异小，制备工艺稳定。

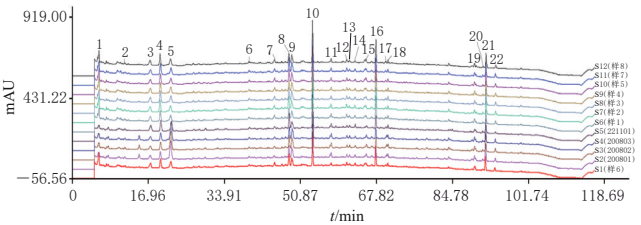


图1　12批扶正胶囊样品的HPLC叠加指纹图谱

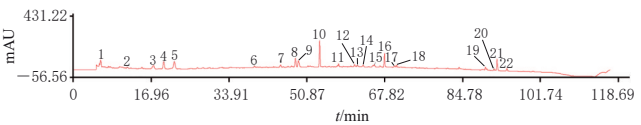
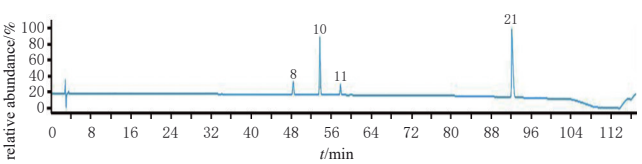


图2　扶正胶囊样品的对照指纹图谱

2.3.5　共有峰的归属与指认

经自动匹配，12批扶正胶囊样品有22个共有峰。通过将对照指纹图谱（图2）与混合对照品溶液色谱图（取“2.2.1”项下混合对照品溶液按“2.1”项下色谱条件进样分析所得，见图3）进行比对，共指认出其中4个色谱峰，分别为甘草苷（峰8）、特女贞苷（峰10）、3,6′-二芥子酰基蔗糖（峰11）、甘草酸铵（峰21）。通过将扶正胶囊样品（样6）色谱图与各单味药材溶液色谱图（取“2.2.4”项下各单味药材溶液按“2.1”项下色谱条件进样分析所得，见图4）进行比对，确认峰1、4、7、11为黄花倒水莲专属峰，峰2为扶芳藤专属峰，峰6、10、17、18为女贞子专属峰，峰8、12～14、19～21为甘草专属峰，峰22为黄根专属峰，峰3为女贞子、牛大力共有峰，峰5为黄根、扶芳藤共有峰，峰9为扶芳藤、甘草共有峰，峰15为黄花倒水莲、甘草共有峰，峰16为黄花倒水莲、女贞子共有峰。



8：甘草苷；10：特女贞苷；11：3,6′-二芥子酰基蔗糖；21：甘草酸铵。

图3　混合对照品溶液的色谱图

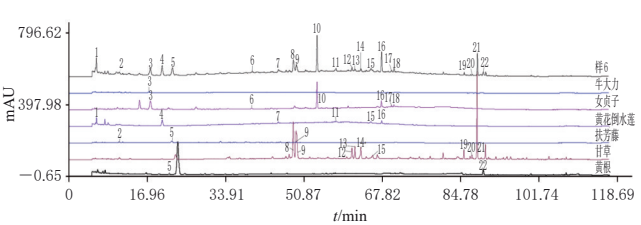


图4　扶正胶囊HPLC指纹图谱共有峰归属

2.3.6　12批样品的聚类分析和主成分分析

以12批扶正胶囊样品指纹图谱中22个共有峰的峰面积为变量，采用SPSS 20.0软件进行聚类分析。采用类间连接法，以平方欧氏距离为分类依据，得到12批扶正胶囊指纹图谱的聚类树状关系图。结果（图5）显示，当平方欧氏距离为5时，12批样品可被分为3类，200801、200802、200803为Ⅰ类，样1～样8为Ⅱ类，221101为Ⅲ类。

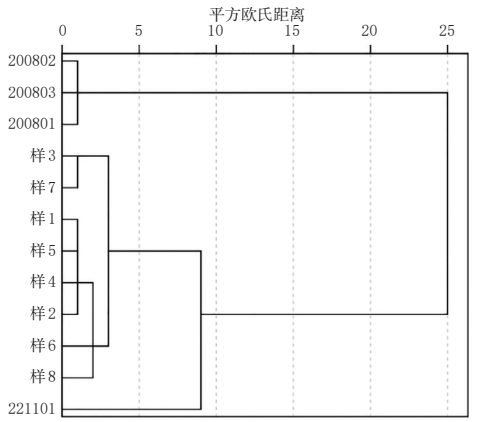


图5　12批扶正胶囊样品22个共有峰峰面积的聚类树状关系图

以12批扶正胶囊样品指纹图谱中22个共有峰的峰面积为变量，采用SPSS 20.0软件进行主成分分析，提取到4个特征值＞1的主成分：第1主成分（Z_1）特征值为9.796，方差贡献率44.529%；第2主成分（Z_2）特征值为4.424，方差贡献率20.110%；第3主成分（Z_3）特征值为3.125，方差贡献率14.206%；第4主成分（Z_4）特征值为2.076，方差贡献率9.438%；上述4个主成分的累计贡献率为88.283%，说明其能够代表12批扶正胶囊样品中22个共有峰88.283%的信息。其中，第1主成分主要反映了峰1、3、4、5、7、9、10、11、16、17、21的信息，第2主成分主要反映了峰2、6、15、20、22的信息，第3主成分主要反映了峰8、14、19的信息，第4主成分主要反映了峰12、13、18的信息。

以4个主成分得分为基础，以每个主成分的方差解释率为权重进行线性加权平均，得主成分综合得分（Y）模型为 $Y=0.504\times Z_1+0.228\times Z_2+0.161\times Z_3+0.107\times Z_4$；随后，对各扶正胶囊样品的综合得分进行计算并排序。结果（表1）显示，12批样品中，200802的综合得分（2.540）高于其他批次，表明其质量最优。

表1　12批扶正胶囊样品主成分得分及综合得分结果

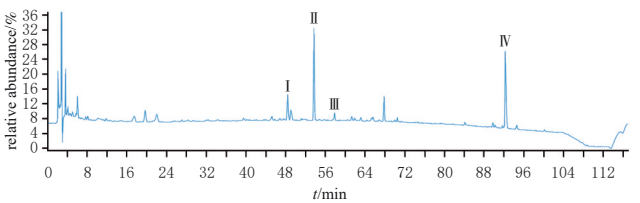
样品	Z_1	Z_2	Z_3	Z_4	综合得分（Y）	排名
200802	5.036	0.216	−0.156	−0.207	2.540	1
200801	5.177	−0.054	−0.330	−0.210	2.521	2
200803	5.202	0.024	−0.009	−6.695	1.909	3
样7	−1.078	2.859	1.918	0.966	0.521	4
样3	−1.517	1.14	0.667	1.614	−0.225	5
样2	−1.630	1.958	1.321	−0.770	−0.245	6
样5	−1.616	1.574	−0.525	−0.448	−0.588	7
样1	−2.337	−0.419	−0.138	1.766	−1.107	8
样4	−2.210	0.106	−0.725	−0.096	−1.217	9
221101	−1.261	−4.964	3.416	−0.879	−1.311	10
样6	−1.259	−2.805	−3.461	1.684	−1.651	11
样8	−2.506	0.365	−1.976	−3.419	−1.864	12

2.4　扶正胶囊中4个成分的含量测定

采用HPLC法测定扶正胶囊中甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵4个成分的含量。

2.4.1　专属性试验

分别精密吸取“2.2.2”项下对照品混合液B、“2.2.3”项下供试品溶液（样6）、阴性对照溶液（甲醇）各10 μL，按“2.1”项下色谱条件测定，记录色谱图（图6，对照品混合液B、阴性对照溶液图略）。结果显示，甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵对应色谱峰的分离度均大于1.5；二极管阵列检测器纯度分析显示，待测成分甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵对应色谱峰的纯度均大于0.999，且均大于其单点阈值，说明各色谱峰纯度较高；阴性对照溶液对各成分的测定无干扰，表明该方法的专属性良好。



Ⅰ：甘草苷；Ⅱ：特女贞苷；Ⅲ：3,6′-二芥子酰基蔗糖；Ⅳ：甘草酸铵。

图6　扶正胶囊样品（样6）含量测定色谱图

2.4.2　线性关系考察

分别精密吸取“2.2.2”项下对照品混合液B 5、10 μL，对照品混合液A 2、5、10、15 μL，按“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积。以待测成分进样量（μg）为横坐标（x）、对应峰面积为纵坐标（y）绘制标准曲线，结果见表2。结果显示，甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵在其检测质量浓度范围内与峰面积的线性关系均良好（相关系数均大于0.999）。

表2　各待测成分的回归方程、相关系数和线性范围

待测成分	回归方程	相关系数	线性范围/μg
甘草苷	y=1 574.042 9x+4.238 4	0.999 4	0.045 6~1.368 6
特女贞苷	y=1 034.175 9x−3.929 1	1.000 0	0.248 0~7.438 5
3,6′-二芥子酰基蔗糖	y=2 195.109 8x+15.603 3	0.999 9	0.021 5~0.646 2
甘草酸铵	y=628.455 6x−10.801 0	1.000 0	0.786 8~23.603 4

2.4.3　精密度试验

精密吸取“2.2.3”项下供试品溶液（样6）10 μL，按“2.1”项下色谱条件连续进样6次，记录峰面积。结果显示，甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵峰面积的RSD分别为0.9%、1.0%、1.6%、1.2%（n=6），表明方法精密度良好。

2.4.4　重复性试验

取扶正胶囊样品（样6），共6份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积并按“2.4.2”项下所得回归方程计算样品中甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵的含量。结果显示，上述4种成分含量的RSD分别为0.9%、2.0%、1.7%、0.9%（n=6），表明方法重复性良好。

2.4.5　稳定性试验

取扶正胶囊样品（样6），按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件，分别于室温静置1、4、8、12、18、24 h时进样分析并记录峰面积。结果显示，甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵峰面积的RSD分别为1.2%、0.5%、1.6%、0.1%（n=6），表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.4.6　加样回收率试验

取已知含量的扶正胶囊样品（样6），共6份，每份约0.50 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，分别精密加入甘草苷对照品储备液（912.38 μg/mL）0.5 mL、特女贞苷对照品储备液（1 239.75 μg/mL）1.75 mL、3,6′-二芥子酰基蔗糖对照品储备液（861.58 μg/mL）0.1 mL、甘草酸铵对照品储备液（5 245.20 μg/mL），按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积并计算加样回收率。结果显示，甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵的平均回收率分别为103.15%、98.66%、99.04%、98.57%，RSD分别为1.0%、2.1%、2.4%、1.1%（n=6），表明方法准确性良好。

2.4.7　耐用性试验

取扶正胶囊样品（样6），按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，分别采用Gemini-NX C_{18}色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）、GL Sciences Inertsil ODS-P C_{18}色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）、Agilent 5 HC-C_{18}（2）色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）测定样品中甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵的含量。结果显示，上述4种成分的平均含量分别为0.56、1.81、0.09、1.44 mg/粒，RSD分别为1.0%、0.6%、3.5%、1.0%（n=3），表明方法在不同色谱柱条件下的耐用性良好。

2.4.8　样品含量测定

取12批扶正胶囊样品，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，以“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积并按“2.4.2”项下所得回归方程计算样品中甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵的含量。结果（表3）显示，上述4种成分的含量分别为0.44～0.73、1.28～2.47、0.08～0.12、1.31～1.81 mg/粒。

表3　12批扶正胶囊样品中4种成分的含量（mg/粒）

样品	甘草苷	特女贞苷	3,6′-二芥子酰基蔗糖	甘草酸铵
200801	0.60	1.28	0.12	1.79
200802	0.58	1.30	0.11	1.81
200803	0.58	1.28	0.12	1.79
221101	0.73	1.89	0.10	1.34
样1	0.49	2.01	0.09	1.40
样2	0.59	2.08	0.10	1.63
样3	0.58	2.37	0.09	1.59
样4	0.50	2.08	0.08	1.39
样5	0.57	1.95	0.09	1.44
样6	0.56	1.78	0.09	1.43
样7	0.69	2.47	0.09	1.69
样8	0.44	2.29	0.09	1.31

3　讨论

3.1　色谱条件的优化

本课题组前期采用二极管阵列检测器在190～400 nm波长范围内对混合对照品溶液和供试品溶液进行扫描，结果显示，甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵的最大吸收波长分别为276、226、240、252 nm，但在上述波长下，各成分易受到其他色谱峰的干扰；而在238 nm波长下，各成分均有较强的紫外吸收，且干扰较少、分离度及丰度较好，故选择238 nm作为检测波长。本课题组前期还考察了不同流动相（甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%甲酸溶液、乙腈-0.1%甲酸溶液等梯度洗脱）、不同柱温（30、35 ℃）等条件对各待测成分检测的影响，最终确定以乙腈-0.1%甲酸溶液为流动相梯度洗脱，流速为1.0 mL/min，柱温为35 ℃。

3.2　指纹图谱及含量测定结果分析

本研究采用同一色谱条件，将指纹图谱与多组分含量测定相结合，可更全面、科学地对中药及制剂进行质量评价[4-6]。本研究结果显示，12批扶正胶囊样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度均大于0.91，表明各批样品的化学组成相似，制备工艺稳定。本研究还通过共有峰归属及指认，确认了甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵4个共有成分，并揭示了各组方药材的专属及共有成分，进一步阐释了该药的成分组成。聚类分析结果显示，12批扶正胶囊样品可分为3类，200801、200802、200803为Ⅰ类，样1～样8为Ⅱ类，批号221101为Ⅲ类。主成分分析结果显示，200802样品的综合得分最高。含量测定结果显示，12批扶正胶囊样品中，甘草苷、特女贞苷、3,6′-二芥子酰基蔗糖、甘草酸铵的含量分别为0.44～0.73、1.28～2.47、0.08～0.12、1.31～1.81 mg/粒。其中，200801、200802、200803为2020年产样品，221101为2022年产样品，均为批量生产样品；样1～样8为小试样品。各样品间共有成分的含量差异可能是因为2020年样品生产时间较早，成分含量可能有所变化；同时，由于各组方药材饮片产地及单批生产量不同，成分含量可能存在差异，笔者推测生产日期、饮片产地、单批生产量可能是影响扶正胶囊质量的主要因素。

综上所述，12批扶正胶囊样品的主要成分相似但含量有所差别，以200802样品质量最优；所建指纹图谱和多指标成分含量测定方法专属性强、准确度高，结合化学模式识别分析可用于扶正胶囊的质量评价。

参考文献

[1] 广西壮族自治区药品监督管理局. 医疗机构中药民族药制剂再注册批件[Z]. 2018-09-03.
Guangxi Zhuang Autonomous Region Medical Products Administration. Re-registration approval for traditional Chinese medicine and ethnic medicine preparations in medical institutions[Z].2018-09-03.

[2] 陈霞，阳长明，陈浩，等. 基于中药复方制剂特点的中药复方制剂生产工艺研究[J]. 中草药，2021，52(19)：5807-5813.

CHEN X，YANG C M，CHEN H，et al. Research of preparation process of Chinese materia medica compound preparation based on characteristics of Chinese materia medica compound preparation[J]. Chin Tradit Herb Drugs，2021，52(19)：5807-5813.

[3] 杨冰，封亮，贾晓斌. 基于“组分结构”特征的中药制剂质量评价策略[J]. 中草药，2019，50(17)：4003-4007.
YANG B，FENG L，JIA X B. Quality evaluation strategy of Chinese materia medica preparation based on characteristics of “structural composition of multi-components”[J]. Chin Tradit Herb Drugs，2019，50(17)：4003-4007.

[4] 叶婷，梁文仪，梁林金，等. HPLC指纹图谱在中药制剂质量研究中的应用[J]. 世界科学技术-中医药现代化，2017，19(11)：1794-1800.
YE T，LIANG W Y，LIANG L J，et al. Application of HPLC fingerprint in quality of traditional Chinese medicine preparations[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol，2017，19(11)：1794-1800.

[5] 赵桉熠，倪凤燕，陈彭月，等. 以一致性为核心的中成药质量研究现状及优质评价新模式探讨[J]. 中国中药杂志，2020，45(15)：3740-3748.
ZHAO A Y，NI F Y，CHEN P Y，et al. Current studies on quality of Chinese patent drugs with consistency as core and discussions on new high-quality evaluation model[J]. China J Chin Mater Med，2020，45(15)：3740-3748.

[6] 张佳，杨怀瑾，马丽霞，等. 中药品质传递过程评价技术与方法研究进展[J]. 中草药，2021，52(15)：4711-4721.
ZHANG J，YANG H J，MA L X，et al. Research progress on evaluation technology and method of quality delivery process of traditional Chinese medicine[J]. Chin Tradit Herb Drugs，2021，52(15)：4711-4721.

[7] 农璐蔚，陈松. 黄花倒水莲研究进展[J]. 亚太传统医药，2022，18(7)：227-231.
NONG L W，CHEN S. Research progress of *Polygala fallax* hemsl[J]. Asia Pac Tradit Med，2022，18(7)：227-231.

[8] 赵润清，胡园，李牧函，等. 3，6′-二芥子酰基蔗糖联合tenuifoliside A协同抗抑郁作用及其机制的研究[J]. 中国药理学通报，2016，32(5)：716-722.
ZHAO R Q，HU Y，LI M H，et al. Study on synergistic antidepressant effect of 3，6′-disinapoyl sucrose combined with tenuifoliside A and its possible mechanism[J]. Chin Pharmacol Bull，2016，32(5)：716-722.

[9] 张洁. 远志中3，6′-二芥子酰基蔗糖酯的抗焦虑作用及药代动力学研究[D]. 北京：北京中医药大学，2022.
ZHANG J. Study on the anti-anxiety effect and pharmacokinetics of 3，6′-disinapoyl sucrose ester in *Polygala tenuifolia*[D]. Beijing：Beijing University of Chinese Medicine，2022.

[10] 徐志宏，代爽，刘静雅，等. 3，6′-二芥子酰基蔗糖在制备治疗2型糖尿病的药物中的应用：CN113082038A[P]. 2021-07-09.
XU Z H，DAI S，LIU Y J，et al. Application of 3，6′-disinapoyl sucrose in the preparation of drugs for the treatment of type 2 diabetes：CN113082038A[P]. 2021-07-09.

[11] 余思萍. 特女贞苷改善2型糖尿病小鼠胰岛素抵抗的机制研究[D]. 广州：广东药科大学，2022.
YU S P. Mechanism of *Ligustrum lucidum* Ait in improving insulin resistance in type 2 diabetic mice[D]. Guangzhou：Guangdong Pharmaceutical University，2022.

[12] 顾闻，刘特，陈久林，等. 特女贞苷对血管内皮细胞氧化损伤的作用研究[J]. 中国中西医结合杂志，2018，38(9)：1093-1098.
GU W，LIU T，CHEN J L，et al. Effect of specnuezhenide reducing the oxidative damage of vascular endothelial cells[J]. Chin J Integr Tradit West Med，2018，38(9)：1093-1098.

[13] 杨倩倩，孟子盈，王晓禹，等. 甘草苷的提取纯化和药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源，2023，42(4)：12-17.
YANG Q Q，MENG Z Y，WANG X Y，et al. Extraction and purification of glycyrrhizin and its pharmacological effects：a review[J]. Chin Wild Plant Resour，2023，42(4)：12-17.

[14] 吴凤爱，逯青霞，侯贵明，等. 甘草苷对血管紧张素Ⅱ诱导的心肌细胞肥大的影响[J]. 中国临床药理学杂志，2023，39(19)：2780-2784.
WU F A，LU Q X，HOU G M，et al. Effect of liquiritin on angiotensin Ⅱ-induced cardiomyocyte hypertrophy[J]. Chin J Clin Pharmacol，2023，39(19)：2780-2784.

[15] 邵杨，安丹蔷，杨杨，等. 脊髓损伤小鼠中甘草苷通过抑制MAPK通路抑制炎症和神经元凋亡[J]. 中国医科大学学报，2022，51(6)：518-523，547.
SHAO Y，AN D Q，YANG Y，et al. Liquiritin suppresses inflammation and apoptosis in a mouse model of spinal cord injury via inhibiting the MAPK signaling pathway[J]. J China Med Univ，2022，51(6)：518-523，547.

[16] 黄娇，罗杰伟，韩丽，等. 甘草酸铵调控IL-33/ST2通路对特应性皮炎小鼠肥大细胞活化的影响[J]. 药物评价研究，2020，43(11)：2181-2186.
HUANG J，LUO J W，HAN L，et al. Effect of ammonium glycyrrhizinate regulation of IL-33/ST2 pathway on mast cell activation in atopic dermatitis mice[J]. Drug Eval Res，2020，43(11)：2181-2186.

[17] 常成，宋燕. 甘草酸铵对带状疱疹后遗神经痛大鼠GLP-1R/IL-10/β-内啡肽通路及脊髓背角小胶质细胞活化的影响[J]. 免疫学杂志，2022，38(1)：81-87.
CHANG C，SONG Y. Effects of ammonium glycyrrhizinate on GLP-1R/IL-10/β-endorphin pathway and microglia activation in spinal dorsal horn of rats with postherpetic neuralgia[J]. Immunol J，2022，38(1)：81-87.

[18] 赵慧，吕佳，曹燕妮，等. 甘草酸铵对对乙酰氨基酚致人肝细胞损伤的保护作用研究[J]. 中南药学，2017，15(3)：301-304.
ZHAO H，LYU J，CAO Y N，et al. Protective effect of ammonium glycyrrhizinate on injured human hepatocytes by acetaminophen[J]. Cent South Pharm，2017，15(3)：301-304.

（收稿日期：2024-04-16　修回日期：2024-07-23）
（编辑：张元媛）